

BpEBP1转录因子调控白桦抗旱的分子机制

孙士林¹, 王玉成^{1*}

1 沈阳农业大学林学院辽宁省林木遗传育种与培育重点实验室, 沈阳 110866

摘要: AP2/ERF 基因家族是独属于植物的一大基因家族, 不但参与植物生长发育过程, 而且响应生物胁迫与非生物胁迫反应, 对植物生理生化调节起到重要的作用。本研究通过白桦层级干旱调控网络, 针对最上层的隶属于 ERF 家族成员基因 *BpEBP1* 展开研究, 主要结果如下: (1) 干旱胁迫下, 我们发现 *BpEBP1* 表达量上调表达, 且主要在根中受到诱导; (2) *BpEBP1* 是一个典型的 ERFVII 亚家族成员, 通过 Y1H 和 EMSA 验证其可以结合 GCC-box 和 DRE/CRT 元件; 通过亚细胞定位发现, *BpEBP1* 定位在细胞核; *BpEBP1* 具有自激活活性, 且自激活区段为 280-312Aa; (3) 通过对 *BpEBP1* 过表达株系、野生型和 *bpebp1* 基因敲除株系进行干旱胁迫处理, 发现过表达 *BpEBP1* 使白桦抗旱能力得到增强, 而敲除 *BpEBP1* 则出现干旱敏感表型。另外, 通过生理指标的测定结果发现 *BpEBP1* 能够减少细胞受损伤程度, 从而提高过表达 *BpEBP1* 基因白桦耐旱能力; (4) 对干旱胁迫下的转基因植株进行 RNA-Seq 和 ChIP-Seq 实验。发现干旱条件下 *BpEBP1* 调控苯丙烷类和类黄酮相关基因的表达, 影响了木质素和花青素含量的积累; 另外, 结合酵母单杂交和 EMSA 实验发现 *BpEBP1* 可以识别 NGH4 元件; 我们对二者进行联合分析, 通过 ChIP-PCR、ChIP-qPCR 和 EMSA 实验筛选出 *BpEBP1* 直接结合调控的 6 个下游基因; (5) 结合体内体外实验, 我们发现在干旱胁迫条件下 *BpEBP1* 存在磷酸化修饰; 另外, 干旱处理可以使 *BpEBP1* 第 148 位丝氨酸位点被磷酸化, 将该位点突变成丙氨酸后发现磷酸化水平消失, 将该突变位点稳定转化发现, 其对干旱胁迫的耐受性明显减弱, 因此该位点对于 *BpEBP1* 响应干旱胁迫十分重要; (6) 通过 Co-IP 结合 LC-MS/MS 对 *BpEBP1* 体内互作蛋白进行鉴定, 共鉴定到 37 个互作蛋白, 其中丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 EDR1 可以与 *BpEBP1* 发生互作, 通过体外 Y2H 同样证明了 *BpEBP1* 与蛋白激酶 EDR1 间的互作关系。本实验为揭示 *BpEBP1* 基因耐旱调控途径提供了基础, 为白桦遗传改良提供了理论参考, 为在易干旱的土地中扩大栽植培育出的耐旱白桦以创造更大的价值。